

Pengaruh Variasi Media terhadap Aktivitas Fitase *Burkholderia* Sp. Strain HF. 7

Hafsan

Muhammad Maslan

Mashuri Masri

Laily Agustina

Asmuddin Natsir

Ahyar Ahmad

Abstrak. Tanaman biji-bijian, sereal, atau kacang-kacangan yang dijadikan sebagai pakan ternak, mengandung asam fitat yang tidak dapat dicerna oleh hewan monogastrik. Asam fitat ($C_6H_{18}O_{24}P_6$) merupakan zat antinutrisi yang mampu mengikat sekitar 80% fosfor dalam pakan, juga mengikat protein, vitamin dan mineral (Mg^{++} , Fe^{++} , Zn^{++} , Mn^{++} , Ca^{++}) maka, salah satu solusi untuk mengatasi masalah tersebut adalah aplikasi enzim fitase, termasuk yang dihasilkan oleh bakteri. Enzim fitase dapat menghidrolisis asam fitat pada pakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui optimalisasi produksi aktivitas fitase dari variasi media Phytate Production Media (PPM). Penelitian ini adalah menggunakan pendekatan deskriptif. Variasi sumber fitat yang digunakan: kalsium (Ca) fitat, bekatul padi, bekatul jagung, dan kedelai. Sumber nitrogen: $(NH_4)_2SO_4$, yeast extract, dan pepton. Fase pertumbuhan *Burkholderia* sp. Strain HF.7 ditentukan sebagai acuan untuk produksi fitase yaitu fase stasioner 62 jam dengan nilai OD 2,060 log/sel. Produksi fitase optimum pada variasi media PPM yaitu kedelai-pepton dengan nilai kadar protein 46,5 mg/mL dan nilai aktivitas 8.20 U/mL pada kondisi pH 7 dengan inkubasi 37°C selama 62 jam. Aktivitas fitase produksi PPM tanaman sereal memiliki nilai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan media PPM Ca-fitat yang nilai aktivitasnya rendah.

Kata Kunci: *Burkholderia*, enzim, fitat dan fitase.

Pendahuluan

Fitat merupakan bentuk utama penyimpanan fosfor pada tanaman biji-bijian dan sereal, yaitu mencapai lebih dari 80%. Asam fitat dalam kondisi alami akan membentuk ikatan yang kuat dan akan berasosiasi dengan mineral bervalensi dua (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , P^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , dan K^{2+}), maupun protein menjadi senyawa kompleks yang sukar larut, sehingga dapat menyebabkan gangguan metabolisme dengan menimbulkan dampak negatif pada hewan monogastrik seperti berkurangnya daya cerna terhadap protein dan mineral (Sreedevi dan Reddy, 2013).

Pada hewan monogastrik seperti unggas dan ikan, yang tidak menghasilkan fitase dalam saluran pencernaannya, asam fitat tidak dapat dihidrolisis. Efek lain akibat keberadaan fitat pada pakan menjadi masalah karena ketersediaan fosfor yang dapat diserap menjadi terbatas, sehingga fosfor ikut keluar bersama feses (Sajidan dkk., 2004). Sedangkan untuk memenuhi kebutuhan ternak akan fosfor, dilakukan dengan menambahkan fosfor an organik bebas ke dalam pakan yang tentu saja akan berimbas pada naiknya biaya produksi pakan. Jika dalam lingkungan peternakan pengeluaran fosfor ke lingkungan tersebut berkelanjutan, maka dapat menyebabkan pencemaran

BIONATURE

p-ISSN 1411 - 4720

e-ISSN 2654 - 5160

Abstract. Cereals and legumes used as animal feed containing phytic acid which cannot be absorbed by the digestive tract of monogastric animals because phytic acid ($C_6H_{18}O_{24}P_6$) is an antinutrient that binds approximately 80% P in feed, also binds to proteins, vitamins and minerals (Mg^{++} , Fe^{++} , Zn^{++} , Mn^{++} , Ca^{++}). Then, one option to overcome this problem is the application of phytase enzymes from various sources, including those produced by bacteria. Phytase enzymes can hydrolyse phytic acid in the feed. This study was aimed to determine the growth phase of *Burkholderia* sp. HF.7 and optimisation of production of phytase activity from variations of Phytate Production Media (PPM) media. This research used as a descriptive approach.

The study design used a completely randomised design (CRD) with a factorial pattern consisting of 2 factors, each variation in phytate sources: calcium (Ca) phytate, rice bran, corn bran, and soybeans. Nitrogen source: $(NH_4)_2SO_4$, yeast extract, and peptone. *Burkholderia* sp. HF.7 Growth phase as a standard for phytase production is the 62-hour stationary phase with an OD value of 2.060 log/cell. The optimum phytase production in the variation of PPM media is soybean-peptone with a protein content value of 46.5 mg/mL and an activity value of 8.20 U/mL under conditions of pH 7 with incubation of 37°C for 62 hours. So, phytase activity produced by PPM of cereal crops has a higher current value compared to PPM Ca-phytate media with low activity value.

Keywords: *Burkholderia*, Phytate, Phytase, enzymes.

Hafsan

Universitas Islam Negeri Alauddin
Makassar Indonesia

Muhammad Maslan

Universitas Islam Negeri Alauddin
Makassar Indonesia

Mashuri Masri

Universitas Islam Negeri Alauddin
Makassar Indonesia

Laily Agustina

Universitas Hasanuddin Makassar
Indonesia

Asmuddin Natsir

Universitas Hasanuddin Makassar
Indonesia

Ahyar Ahmad

Universitas Hasanuddin Makassar
Indonesia

lingkungan karena kandungan fosfor di tanah akan terus meningkat dan bermuara pada terjadinya eutrofikasi.

Untuk mengatasi masalah penyerapan nutrisi oleh hewan monogastrik dan pencemaran lingkungan sebagai dampak dari aktifitas peternakan hewan monogastrik, maka enzim fitase menjadi salah satu jawabannya. Menurut Greiner dan Konietzny (2011), fitase termasuk kelompok enzim phosphomonoesterases yakni mio-inositol eksakisfosfat 3-fosfohidrolase (EC 3.1.3.8) dan mio-inositol eksakisfosfat 6-fosfohidrolase, (EC 3.1.3.26) dengan mampu memulai pelepasan bertahap fosfat dari asam fitat (mio-inositol (1, 2, 3, 4, 5, 6) hexakisphosphate). Fitase adalah enzim yang dapat memecah atau menghidrolisis senyawa fitat pada ikatan fosfoester menjadi mio-inositol dan fosfat organik (Mittal dkk., 2013).

Fitase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme melalui induksi substrat, tumbuhan dan jaringan tubuh ternak. Maka bakteri sebagai salah satu penghasil enzim yang potensial menjadi faktor penting dalam produksi enzim (Muthuraman dkk., 2013). Enzim yang diisolasi dari mikroorganisme memiliki beberapa keunggulan yaitu dinilai lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat dan mudah diperbanyak, dapat ditumbuhkan pada substrat yang murah, potensi produksinya tidak terbatas, potensi fitase mikroba dalam memproduksi enzim dapat ditingkatkan, dan dapat dikendalikan (Hafsan, 2018). Menurut Wulandari (2015), bahwa produksi enzim dari suatu mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh faktor internal, yaitu faktor genetik pada DNA dari masing-masing mikroorganisme. Sedangkan faktor eksternal komposisi media produksi, agitasi, suhu, dan pH media.

Berbagai penelitian telah melaporkan penggunaan mikroorganisme sebagai sumber dalam produksi enzim fitase seperti *Burkholderia* sp., *Escherichia coli*, *Aspergillus heteromorphus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Anoxybacillus* sp., *Enterobacter Sakazakii*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Penicillium Purpureogenum*, *Lactobacillus amylovorus*, *Selenomonas ruminantium*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella oxitoca*, *Klebsiella aerogenes* dan *Klebsiella terrigena* (Khianngam dkk., 2011; Awad, 2012; Rebeula dkk., 2012; Hussin 2012; Kanpiengjai dkk., 2013; Sandhya dkk., 2015; Lata dkk., 2013; Wulandari, 2015; Hafsan dkk. 2018). Sebagai upaya eksplorasi sumber-sumber penghasil fitase yang potensial serta mengetahui tingkat kemampuannya dalam menghasilkan fitase, maka dilakukan penelitian mengenai produksi dan optimasi aktivitas fitase bakteri endofit asal jagung yaitu *Burkholderia* sp. strain HF.7 pada variasi media (sumber fitat dan sumber nitrogen) untuk mengetahui kemampuan optimum enzim yang dihasilkan oleh bakteri endofit tersebut.

Metode Penelitian

Prosedur Kerja

Meliputi preparasi dan produksi, penentuan kadar protein, optimasi serta pengukuran aktivitas ekstrak kasar enzim fitase.

Preparasi preparasi dan produksi ekstrak kasar enzim fitase

Pada tahap ini diawali dengan preparasi starter kultur bakteri *Burkholderia* sp. strain HF.7 melalui penentuan kurva pertumbuhannya, sehingga diketahui fase untuk diinokulasikan pada media produksi. Produksi Enzim ekstrak kasar enzim fitase dilakukan dengan media PPM yang divariasikan sesuai perlakuan, yaitu dengan mengubah komposisi media PPM sumber substrat fitat Ca-Fitat 0,5% dan sumber nitrogen ammonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,5%. Variasi yang digunakan diganti sumber substrat fitat alami tanaman pangan serealia yang mempunyai kandungan asam fitat tinggi dan banyak digunakan dalam susunan ransum pakan unggas yaitu bekatul padi, bekatul jagung, dan kedelai. Sedangkan variasi sumber nitrogen yaitu yeast extract dan pepton dengan konsentrasi tetap..

Preparasi kultur dan starter

Pembuatan starter diawali dengan cara 5 ose isolat *Burkholderia* sp.strain HF.7 dari medium agar miring diinokulasikan ke dalam medium 150 mL LB cair baru kemudian diinkubasi pada inkubator shaker dengan diagitasi 180 rpm pada suhu 37°C sampai bakteri mencapai fase stasioner yaitu 62 jam dan di simpan sebagai starter pada saat produksi fitase. Nilai OD diukur dengan interval 2 jam diawali dari 0 jam diambil 2 ml diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm sampai memperoleh satu seri OD yaitu metode turbidimetrik, blanko dibuat medium steril (Hussin, 2012; kumar dkk., 2012).

Produksi Enzim ekstrak kasar enzim fitase

Sebanyak 5 ml starter bakteri diinokulasi pada variasi produksi (PPM) kemudian dinkubasi pada *shaker incubator* 180 rpm selama 3 hari dari fase stasioner (62 jam) kurva tumbuh bakteri dengan suhu 37°C. Kultur sel-sel bakteri yang telah diinkubasi dipisahkan dari medium dengan cara disentrifugasi 5000 rpm selama 35 menit pada suhu 4°C, Lalu diperoleh 2 bagian yaitu supernatan dan pelet/endapan. Supernatan yang diperoleh diukur kadar protein dan uji aktivitasnya (Hussin, 2012; kumar dkk., 2012)..

1. Penentuan kadar protein dengan metode Bradford

Pembuatan reagen Bradford

Ditimbang 0,1 g *Coomessie Brilliant Blue* (CBB) G-250 kemudian dilarutkan dalam 50 ml etanol 96 % (v/v), lalu ditambahkan 100 ml asam fosfat 85% (v/v). dan diencerkan mencapai 1 liter. kemudian campuran dihomogenkan sampai merata lalu disaring dengan kertas saring, penyaringan diulang beberapa kali untuk memisahkan komponen pereaksi yang berwarna biru. Pereaksi bradford harus berwarna coklat muda bening dan di simpan dalam botol gelap pada suhu rendah 4°C (Hussin, 2012).

Pengukuran kurva standar protein

Ditimbang 0,01 g *Bovine Serum Albumin* (BSA) kemudian dilarutkan dengan 10 ml aquadest steril lalu divorteks untuk menghomogenkan sehingga diperoleh larutan induk BSA artinya sudah konsentrasi 1000 ppm. Larutan induk diencerkan diambil 0,5 ml dan ditambahkan 4,5 ml aquadest steril sehingga diperoleh larutan stok BSA 100 ppm. Dari larutan stok tersebut dibuat lagi deret standar lalu ditambahkan 5 ml pereaksi Bradford, lalu divorteks dan didiamkan pada suhu ruang selama ± 10 menit. Protein diukur absorbansinya pada spektrofotometer panjang gelombang 595 nm.

Pengukuran sampel

Sampel diambil 0,1 ml ekstrak kasar enzim dan ditambahkan 5 ml reagen Bradford, lalu divortex dan didiamkan ± 10 menit. Absorbansi larutan sampel protein diukur pada panjang gelombang 595 nm dan dibuat blanko dari 0 ppm standar protein. Dengan persamaan metematik dari kurva standar protein, akan didapatkan kadar protein terlarut yang terkandung dalam larutan ekstrak kasar enzim (supernatant).

2. Penentuan aktivitas fitase dengan kadar fosfat

Pembuatan reagen warna besi sulfat-molibdat biru

1) Ditimbang 7,5 g amonium molybdat dilarutkan dalam 400 ml aquadest steril, kemudian dihomogenkan dan perlahan-lahan ditambahkan 22 ml asam sulfat (H_2SO_4), lalu diencerkan mencapai 500 ml dengan aquadest steril sehingga terbentuk warnanya hijau (stok amonium molybdat). 2) ditimbang 2,7 g FeSO_4 dilarutkan dalam 100 ml aquadest steril sehingga terbentuk warna kuning (Stok Besi Sulfat). Masing larutan di simpan pada botol gelap dan suhu rendah 4 °C sampai 1 bulan. Pembuatan pereaksi warna molybdat kedua larutan dicampur amonium molibdat dan besi sulfat dengan perbandingan 4:1 (Hussin, 2012; Kumar dkk, 2012).

Pembuatan kurva standar fosfat

Ditimbang 0,3834 g kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) di larutkan dalam 100 ml aquadest steri sebagai larutan induk dengan konsentrasinya 1000 ppm. Kemudian encerkan lagi dalam 100 kali. Jadi 10 ml larutan induk diencerkan dengan aquadest steril mencapai 100 ml sebagai larutan standar dengan konsentrasi 10 ppm mengandung 0,03834 g. Kemudian dibuat deret larutan fosfat standar lalu ditambahkan 6,25 pereaksi warna molybdat. Larutan dihomogenkan dan didiamkan selama ± 10 menit pada suhu ruang lalu diencerkan dengan aquades steril sampai volume mencapai 25 ml. kemudian ukur absorbansi pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 700 nm.

Pengukuran aktivitas ekstrak kasar enzim fitase

Sampel diambil 0,15 ml supernatan inkubasi dengan substrat 0,6 ml larutan buffer Tris-HCl 0,1 M pH 7 yang mengandung 2 mM Ca-Fitat dan 2 mM CaCl_2 pada suhu 37°C selama ± 30 menit. Setelah diinkubasi reaksi dihentikan dengan ditambahkan 0,75 TCA 5%, dan terakhir ditambahkan 1,5 ml reagent warna molybdat. kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 700 nm (Hussin, 2102).

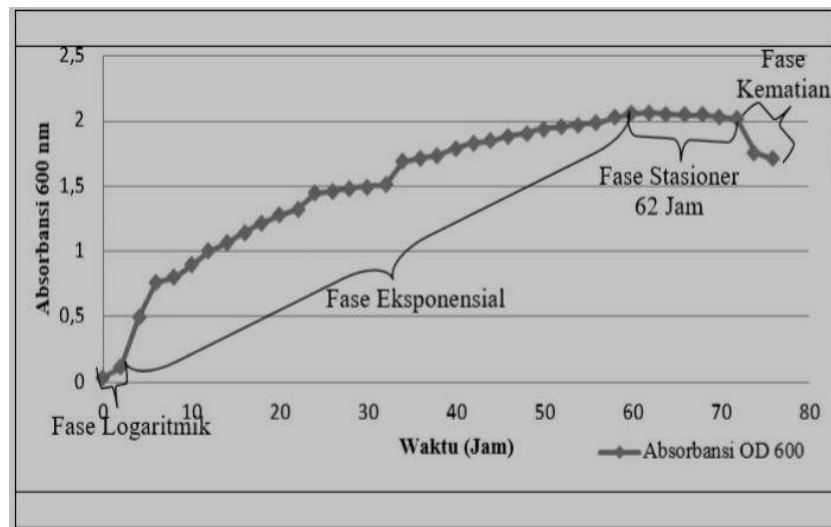
Optimasi produksi aktivitas ekstrak

Dinkubasi pada inkubator shaker diagitasi 180 rpm dengan suhu 37°C selama fase stasioner kurva tumbuh bakteri (62jam). Pengolahan data penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan grafik yang dianalisa secara deskriptif. Aktivitas fitase dinyatakan Satu unit enzim fitase (UI) didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk membevasikan 1 mikromol (μM) fosfor anorganik (Pi) per menit pada kondisi pengujian. Pengukuran aktivitas fitase dan kadar protein ditentukan dengan cara substitusi data absorbansi ke dalam persamaan regresi linear dari kurva larutan standar. Kurva larutan standar didasarkan pada data larutan standar protein albumin (BSA) dengan panjang gelombang 595 nm dan data larutan standar fosfat (KH_2PO_4) dengan panjang gelombang 700 nm.¹⁵

Hasil Penelitian

Burkholderia sp. strain HF.7 merupakan bakteri yang diisolasi dari tanaman jagung (*Zea mays*) bagian akar dapat menghasilkan enzim fitase. Tahap awal yang dilakukan adalah kurva pertumbuhan pada sistem tertutup dengan mengukur kerapatan optik OD (*Optical density*) kultur

murni bakteri *Burkholderia* sp. strain HF.7 yang akan digunakan untuk produksi enzim Fitase. Adapun kurva pertumbuhan yang diperoleh sebagaimana grafik berikut:



Gambar 1. Kurva Tumbuh *Burkholderia* sp HF.7 pada Kultur Tertutup

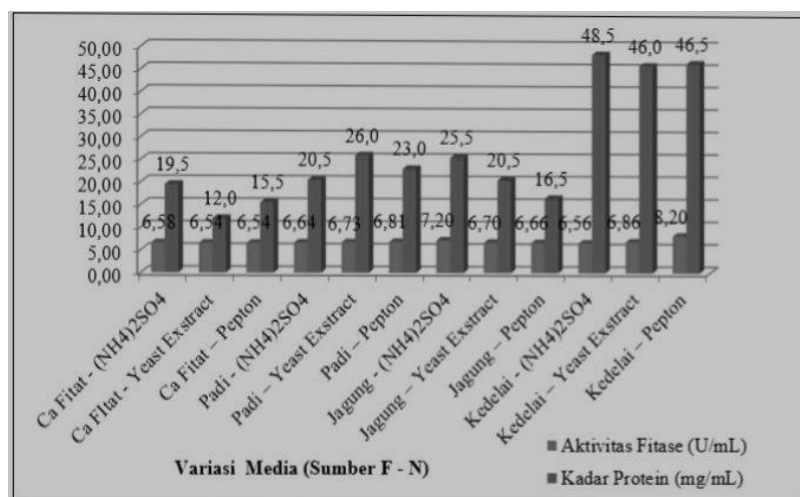
Sebagaimana kurva pertumbuhan pada gambar tersebut, fase pertumbuhan bakteri secara umum terbagi atas 4 fase yaitu fase lag, fase logaritmik, fase stasioner dan fase kematian. Hasil pengamatan menunjukkan fase lag atau fase tenggang terjadi pada 0 jam sampai 2 jam ini, yakni pertumbuhan sel bakteri *Burkholderia* sp. Strain HF.7 sedikit karena bakteri tersebut masih dalam tahap beradaptasi pada medium baru sehingga nilai hasil OD kecil 0,031 log/sel sampai 0,114 log/sel (Volk and Wheeler 1993 and Pratiwi, 2008). Fase logaritmik terjadi setelah melewati jam 2 sampai dengan 62 jam, sel bakteri dari awal lambat dan sedikit lalu meningkat lebih cepat dan lebih besar, karena masih perlu untuk tumbuh dan beradaptasi pada medium baru. Hal ini dibuktikan nilai OD terus meningkat dari 0,488 log/sel menjadi 2,060 log/sel. Pertumbuhan bakteri terus berlangsung maka sel bakteri telah mencapai pembelahan dan pertumbuhan paling tinggi dan nilai konstan atau mengalami keseimbangan antara jumlah sel bakteri membelah sama dengan jumlah sel bakteri yang mati, kemudian mengalami pergantian sel sehingga terdapat kehilangan sel yang lambat. Hal ini dibuktikan dengan awal fase stasioner (tetap) yakni nilai OD dari jam 62 nilai 2,060 log/sel, kemudian mengalami penurunan di jam 72 dengan nilai 2,007 log/sel.

Sel bakteri yang terus membelah sehingga terjadi mutasi dan mengalami lisis telah memasuki fase kematian dari jam 72 sampai jam 76 nilai OD terus menurun artinya jumlah sel bakteri *Burkholderia* sp. Strain HF.7 mati meningkat karena ketersediaan nutrisi berkurang dan akumulasi produk buangan yang bersifat toksik atau racun dengan nilai yang dapat dari 2,007 log/sel menjadi 1,702 log/sel. Fase ini terjadi akumulasi toksik, nutrisi dalam medium sudah habis dan energi cadangan dalam sel habis sehingga banyak sel yang mati. Jumlah sel yang mati bertambah secara eksponensial. Dalam fase ini sel hidup hanya dapat bertahan untuk sementara, waktu generasi sangat lama bahkan tidak ada sama sekali.

Awal fase stasioner dijadikan waktu inkubasi dan diremajakan *Burkholderia* sp. strain HF.7 sebagai starter pada saat produksi fitase, maka waktu inkubasi yang tepat dapat dilihat gambar 1 yaitu di jam 62 jam dengan nilai OD 2,060 log/sel, karena waktu tersebut pertumbuhan sel bakteri terbentuk dengan laju konstan dan belum terjadi akumulasi produk buangan yang bersifat toksik. Maka enzim fitase didapatkan enzim dari hasil metabolit sekunder *Burkholderia* sp. Strain HF.7 yaitu ekstraseluler (enzim kasar fitase). Hussin (2012), mengatakan bahwa awal fase stasioner waktu yang tepat untuk mengisolasi enzim yang dihasilkan bakteri. Sedangkan

Greiner dan Konietzny (2011) menyampaikan bahwa sintesis fitase dari mikroorganisme adalah pada fase awal stasioner mencapai puncak produksi pada akhir fase eksponensial. Demikian halnya menurut Kumar dan Sushma (201) bahwa produksi ekstrak enzim dalam tahap akhir dari pertumbuhan eksponensial, yaitu awal fase stasioner. Setelah mengetahui fase pertumbuhan bakteri yang digunakan, dilakukan produksi fitase dengan variasi media PPM (*Phytase Production Medium*) berdasarkan sumber fitat dan sumber nitrogen yang berbeda. Tujuan optimalisasi untuk mengetahui komposisi media yang dapat memicu produksi fitase dengan aktivitas yang tinggi.

Upaya optimalisasi produksi fitase melalui variasi sumber fitat dan nitrogen yang dilakukan, menunjukkan nilai aktivitas fitase dari tertinggi yaitu kedelai-pepton 8.20 U/mL kemudian disusul jagung-(NH₄)₂SO₄ 7,20 U/mL kedelai – yeast extract 6.86 U/mL, kedelai-(NH₄)₂SO₄ 6.56 U/mL, padi-pepton 6.81 U/mL, padi-yeast 6.73 U/mL, jagung-yeast 6.70 U/mL jagung-pepton 6.66 U/mL, padi-(NH₄)₂SO₄ 6.64 U/mL, Ca fitat-(NH₄)₂SO₄ 6.58 U/mL, kedelai-(NH₄)₂SO₄ 6.56 U/mL, Ca fitat-Yeast Extract 6.54 U/mL, dan ca fitat-pepton 6.54 U/mL. Hasil pengukuran tersebut sebagaimana grafik pada gambar 2 mengindikasikan nilai aktivitas optimum dalam produksi fitase dihasilkan dari media PPM dengan kombinasi komposisi sumber fitat dan nitrogen berupa kedelai-pepton dengan aktivitas 8.20 U/mL. Kanpiengjai dkk (2013) yang telah menggunakan dedak padi dan ekstrak tepung kedelai dalam penelitiannya untuk memaksimalkan produksi fitase strain bakteri tanah PH01, menjelaskan bahwa hubungan antara asam fitat dan sumber nitrogen, dimana substrat kedelai memiliki kandungan asam fitat yang tinggi juga mengandung protein yang tinggi dan kaya dengan nutrisi atau mineral lainnya sehingga nutrisi pertumbuhan bakteri dapat terpenuhi untuk produksi fitase yang maksimum dibanding sumber fitat dan nitrogen lainnya. Kandungan asam fitat pada kedelai yang tinggi, yaitu 1,4% kemudian, jagung 0,9%, lalu padi 0,89%, menjadi faktor kedelai sebagai sumber fitat yang baik untuk menginduksi produksi fitase oleh bakteri. Selain itu kedelai memiliki kandungan protein tinggi dibandingkan dengan jagung dan dedak padi sehingga dapat menjadi sumber nutrisi berupa protein.



Gambar 2. Aktivitas Fitase dan Kadar Protein *Burkholderia* sp. strain HF.7 terhadap Variasi Media Berdasarkan Sumber Fitat dan Sumber Nitrogen.

Bakteri dapat menghasilkan lebih dari 1 jenis enzim atau beberapa enzim. Seperti halnya pada produksi fitase oleh bakteri *Burkholderia* sp. strain HF.7 yang masih berupa ekstrak kasar, masih banyak senyawa pengotor didalamnya dan enzim lainnya. Hasil yang didapatkan bahwa nilai kadar protein dengan aktivitas fitase pada media produksi PPM, antara tingginya konsentrasi protein enzim tidak berbanding lurus terhadap aktivitas fitasnya. Misalkan pada variasi media PPM Kedelai bahwa kedelai-pepton memiliki nilai kadar protein rendah, namun memiliki nilai aktivitas tinggi, karena memiliki konsentrasi enzim fitase tinggi. Sedangkan jika dibandingkan

media produksi PPM kedelai-yeast dan kedelai-(NH₄)₂SO₄ yang memiliki nilai kadar protein tinggi, tetapi aktivitasnya rendah hal ini dikarenakan konsentrasi enzim fitasenya rendah, demikian halnya dengan media PPM lainnya.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai kadar protein enzim tertinggi berturut-turut kedelai-pepton 46.5 mg/mL, kedelai-yeast 46.0 mg/mL, dan kedelai-(NH₄)₂SO₄ 48.5 mg/mL, padi - yeast Extract sebanyak 26.0 mg/mL, Jagung - (NH₄)₂SO₄ sebanyak 25.5 mg/mL, padi - pepton sebanyak 23.0 mg/mL, padi - (NH₄)₂SO₄ sebanyak 20.5 mg/mL, jagung - yeast extract sebanyak 20.5 mg/mL, Ca fitat - (NH₄)₂SO₄ sebanyak 19.5 mg/mL, jagung - pepton sebanyak 16.5 mg/mL, Ca fitat - pepton sebanyak 15.5 mg/mL, dan Ca fitat - yeast extract sebanyak 12.0 mg/mL. maka dapat disimpulkan bahwa produksi fitase dari PPM sereal (kedelai, bekatul padi, jagung) memiliki kadar protein tinggi dibandingkan fitase dari PPM Ca-fitat yang memiliki nilai kadar protein rendah. Dalam variasi media PPM juga memiliki kandungan dan komposisi yang lengkap dan dimanfaatkan oleh bakteri *Burkholderia* sp. strain HF.7 baik dari sumber nitrogen dan fosfat atau sumber nutrisi lainnya.

Pada kombinasi nilai kadar protein dengan aktivitas fitase yang dihasilkan bahwa media PPM pangan (kedelai, jagung dan, bekatul padi) memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan produksi fitase PPM Ca-Fitat. Maka pada penelitian ini produksi fitase dari tanaman pangan sereal sebagai alternatif substrat asam fitat yang harga murah dan mudah dijangkau, sedangkan jika produksi fitase mengandalkan substrat Ca-fitat, selain harganya mahal juga langka dipasaran.

Beberapa penelitian produksi fitase dari tanaman pangan sereal dengan berbagai jenis strain bakteri telah banyak dilaporkan, salah satunya menurut Kanpiengjai dkk., (2013) yang melaporkan bahwa pengaruh sumber substrat dari bahan pertanian untuk produksi fitase dari *Pseudomonas* sp, menunjukkan substrat bekatul+ragi yang memiliki jumlah maksimum produksi fitase dengan aktivitas 0,891 U/mL dibandingkan dengan lainnya bekatul padi 0,551 U/mL, bekatul jagung 0,639 U/mL, dan gandum 0,610 U/mL). Waktu optimum produksi fitase yaitu 72 jam. Amonium sulfat, Sukrosa dan suhu 37°C yang diamati sebagai sumber nitrogen, karbon dan suhu inkubasi yang terbaik untuk produksi fitase lebih tinggi. Produksi fitase dari substrat pertanian memberikan banyak keuntungan terutama mengurangi biaya produksi.

Menurut Khiannang (2011) bahwa *Bacillus amyloliquefaciens* digunakan sebagai produksi enzim fitase dari berbagai sumber substrat pertanian bahwa Na-fitat adalah susbstrat terbaik untuk produksi aktivitas fitase, tapi harganya mahal. Dedak padi, dedak gandum, kulit kacang, biji sisal, biji kacang tanah, biji sorgum, biji jagung, dan biji bunga matahari merupakan substrat alternatif yang dapat digunakan sebagai pakan ternak dengan biaya rendah. makanan sisal dan biji kacang tanah tidak ada aktivitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan dedak gandum (21,833±0,837 U/mL) dan biji sorgum (21,185±0,000 U/mL) menghasilkan aktivitas enzim yang lebih baik dari pada Na-fitat (20,397±0,478 U/mL). kemudian, penggunaan dedak padi (18,256±0.000U/mL) sebagai substrat menunjukkan produksi fitase sama dengan aktivitas Na-phytase. Sedangkan biji jagung (1.465±0,239 U/mL) dan biji bunga matahari (5,156±0,120 U/mL) memiliki nilai aktivitas rendah dari Na-fitat.

Menurut Muthuraman dkk. (2013) bahwa produksi fitase maksimum dari *Pseudomonas fluorescens* menggunakan dedak gandum, yeast ekstrak, kalium dighidrogen fosfat sebagai sumber karbon, nitrogen dan fosfat pada pH 6, selama 3 hari dengan aktivitas enzim 32.94 U/mL pada kondisi yang optimum. Menurut Hussin dkk., (2012) bahwa produksi fitase optimum menggunakan sumber fitat 13,6% bekatul padi dengan aktivitas 11,511 U/mL. Menurut Shumizu (1992) bahwa memproduksi fitase dari kedelai oleh *Bacillus subtilis* (natto) N-7 dengan glutamate dan sukrosa sebagai sumber nitrogen dan carbon, kemudian hasil hidrolisis fitase dari pada asam fitat biji-bijian yang memiliki nilai aktivitas yaitu kedelai 7,84 µM/mL dan dedak padi 2,77 µM/mL.

Kesimpulan

Fase stasioner pada kurva pertumbuhan *Burkholderia* sp. strain HF.7 sebagai acuan produksi enzim fitase yaitu yaitu pada 62 jam dengan nilai OD₆₀₀ 2,060 log/sel. Produksi fitase dari variasi *Phytase Production Medium* (PPM) sumber fitat dan sumber nitrogen oleh

Burkholderia sp. Strain HF.7 bahwa aktivitas fitase media PPM (kedelai, padi dan jagung) memiliki nilai lebih tinggi dari pada produksi media PPM Ca-fitat yang lebih rendah nilai aktivitasnya. Maka didapat media produksi fitase (PPM) yang optimum adalah kedelai-pepton dengan kadar protein 46.5 mg/mL dan aktivitas fitase tertinggi 8.20 U/mL pada kondisi tertentu.

Referensi

- Awad, Ghada, E. A. (2012). Optimization Of Phytase Production By *Penicillium Purpurogenum* GE1 Under Solid Sate Fermentation By Using Box-Bahnken Design. King Saudi Univesity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2 (1).
- Greiner, R., and Konietzny, U. (2011). Phytase. Biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In: M.R. Bedford and G.G. Partridge (eds). *Enzymes in farm Animal Nutrion* 2nd Ed.USA: CABI Pub, 2011, 96-128.
- Hafsan. (2018). The Potential of Endophyte Bacteria Isolated From *Zea Mays* L. as Phytase Producers. *JPAM*, 12 (3), 1277-1280.
- Hussin, A. S. M. (2012). Optimization Of Cultivation Condition For The Production Of Phytase-Degrading Enzumes By *Enterobacter Sakazakii* ASUIA279 Isolated Form Malaysia Maize Root. Malaysia. *journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3 (2)
- Kanpiengjai, Apinun., K. Unban., R. Prathanaphon., & C. Khanongnuch. (2013). Optimal Medium and Conditions for Phytase Production by Thermophilic bacterium, *Anoxybacillys* sp. MHW14. *Food and Applied Bioscience Journal*, 1 (3).
- Khianngam S., Y. Pootaeng, A. Sonloy, J. Kajern-aroonki, & S. Tanasupawai. (2011). Caharacterization and Comparasion of Phytase Production by *Bacillus* and *Paenibacillus* strain from Thai Soils. Thailand. *Malaysian Journal of Microbiologi*, 2 (2).
- Kumar, M. & Sushma. (2011). Optimization of production media of Novel Phytase from *Aspergillus niger* Using Wheat Bran Waste. India. *International Journal of Sciences and Research (IJSR)*, 3(1).
- Kumar, D., J. Mukesh, K. C. P. Rajamanikandan., K. S. Shamna., M. D. Balakumaran & P. T. Kalaichelvan. (2012). Extracellular Production Of Phytase By A Native *Bacillus Subtilis* Strain. India: *Sacholars Research Library: Annals of Biological Research*. 3 (2).
- Lata, S., S Rastogi, A. K. & M. Imran. (2013). Optimization of culture conditional for the production of phytase from *Aspergillus heteromorphus* MTCC 10685. India: *international Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 4 (2).

- Mittal, A., G. Singh, V. Goyal, A. Yadav, K. R. Aneja, S. K. Guatam, & N. K. Aggarwal. (2013). Isolation And Biochemical Characterization Of Acido-Thermophilic Extracelluelar Phytase Producing Bacterial Strain For Potential Application In Poultry Feed. *Jundishapur Journal of microbiology*, 4 (4).
- Muthuraman, M. Sundaram & A. Tungala, & K. A. Narayanan. (2013). Isolation Of Phytase Producing Bacteria From Poultry Faeces And Optimization Of Culuture Conditions For Enhanced Phytase Production. *Academis Science. IJPPS*, 5 (2).
- Rebeula, M., T. Selvamohan., & V. Ramadas. (2012). Optimazation of Phytase Production by *Pseudomonas* sp. Isolated from Poultry Faces. India: International Journal of Modern Engineering Research, (3).
- Sajidan, A. Ratriyanto dan A.M.P. Nuhriawangsa. (2004). Pengaruh Bakteri Penghasil Fitase pada Pakan Campuran *Wheat Pollard* terhadap Perfoman Ayam Broiler. Buletin Peternakan. Yogyakarta. *Fakultas Peternakan UGM*, 28 (3).
- Sandhya, A., A. Sridevi., P. Suvarnalatha Devi., & G. Narasimha. (2015). Production and Optimization Of Phytase By *Aspergillus niger*. India: *Scholar Research Library, Der Pharmacia Lettre*, 7 (12).
- Wulandari, R., Sajidan, & Suranto. (2015). Analisis Gen 16s rRNA pada Bakteri Penghasil Enzim Fitase. Surakarta. *Sikripsi Program Pasca Sarjana Universitas Sebelah Maret Surakarta*.

Hafsan	Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar E-mail: hafsan.bio@uin-alauddin.ac.id
Muhammad Maslan	Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar E-mail: maslan@uin-alauddin.ac.id
Mashuri Masri	Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar E-mail: hafsan.bio@uin-alauddin.ac.id
Laily Agustina	Prodi Nutrisi dan Teknologi pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin Makassar E-mail: laily.agustina@gmail.com
Asmuddin Natsir	Prodi Nutrisi dan Teknologi pakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin Makassar E-mail: asmuddin_natsir@unhas.ac.id
Ahyar Ahmad	Prodi Kimia, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin Makassar E-mail: ahyarahmad@gmail.com